

Mekanisme Toleransi Aluminium pada Rumput Pakan *Setaria splendida*

Aluminum Tolerance Mechanism in Setaria splendida

Panca Dewi Manu Hara Karti*

Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan
Fakultas Peternakan, Kampus IPB, Darmaga Bogor 16680, Indonesia.

Diterima 24 Desember 2010/Disetujui 9 Juni 2011

ABSTRACT

Plant tolerance mechanism to aluminum (Al) toxicity can be studied by comparing the Al-tolerant and Al-sensitive species. *Setaria splendida* is an Al tolerant forage, while *Chloris gayana* is a Al sensitive one. This research was aimed to reveal the main Al-tolerant mechanism in *S. splendida*. The first experiment was arranged in completely randomized design with two factors and two replications to study the organic acid and Al accumulation in the *S. splendida* and *C. gayana*. The first factor was Al concentration (0 and 2 mM Al), while the second factor was Al tolerant (*S. splendida*) and Al sensitive (*C. gayana*) species. The second experiment was arranged in completely randomized design with two factors and three replications to study the effect of Al stress on plant growth. The first factor was Al tolerant (*S. splendida*) and Al sensitive (*C. gayana*) species, while the second factor was four levels of Al concentration in the growth medium (28.19, 27.37, 13.74, and 0.13 me Al³⁺). The results showed that the Al accumulation in the root tissue of *S. splendida* was similar to *C. gayana*. Although *S. splendida* accumulated higher Al in the shoots in comparison to *C. gayana*, they were more tolerant to Al. *S. splendida* tolerated Al-toxicity by secreting oxalic acids and citric acid from roots to the external solution, and by accumulating oxalic acid and malic acid in their roots and shoots.

Keywords: aluminum, *Chloris gayana*, organic acid, *Setaria splendida*, tolerance.

ABSTRAK

Mekanisme toleransi tanaman terhadap toksisitas aluminium (Al) dapat dipelajari melalui perbandingan toleransi antara tanaman toleran dan tanaman sensitif toksisitas Al. *Setaria splendida* adalah tanaman pakan yang toleran terhadap Al, sedangkan *Chloris gayana* merupakan tanaman yang sensitif. Penelitian ini dilakukan untuk mengungkapkan mekanisme toleransi *S. splendida* terhadap toksisitas Al. Percobaan pertama disusun menggunakan rancangan acak lengkap yang terdiri atas dua faktor untuk mempelajari akumulasi Al dan asam organik pada *S. splendida* dan *C. gayana*. Faktor pertama adalah konsentrasi Al (0 dan 2 mM Al), sedangkan faktor kedua adalah jenis rumput pakan, yaitu rumput toleran Al (*S. splendida*) dan rumput sensitif Al (*C. gayana*). Percobaan kedua disusun menggunakan rancangan acak lengkap yang terdiri atas dua faktor dan tiga ulangan untuk mempelajari pengaruh cekaman Al pada *S. splendida* dan *C. gayana*. Faktor pertama adalah jenis rumput pakan (*S. splendida* dan *C. gayana*), sedangkan faktor kedua adalah konsentrasi Al pada media tanam (28.19, 27.37, 13.74, and 0.13 me Al³⁺). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa akumulasi Al pada jaringan akar *S. splendida* tidak berbeda dengan yang terakumulasi pada jaringan akar *C. gayana*. Walaupun *S. splendida* mengakumulasi Al dalam jumlah yang lebih tinggi dibandingkan *C. gayana* di bagian tajuk, *S. splendida* memiliki toleransi terhadap toksisitas Al. Toleransi *S. splendida* terhadap toksisitas Al dicapai dengan cara mensekresikan asam oksalat dan asam sitrat dari akar ke larutan eksternal, dan mengakumulasi asam oksalat dan asam malat pada akar dan tajuk.

Kata kunci: aluminium, asam organik, *Chloris gayana*, *Setaria splendida*, toleransi

PENDAHULUAN

Setaria splendida merupakan salah satu jenis rumput pakan ternak yang memiliki toleransi tinggi terhadap kondisi toksisitas aluminium (Al). Mekanisme toleransi

terhadap toksisitas Al dapat dibedakan menjadi dua yaitu 1) mekanisme toleransi eksternal dan 2) mekanisme toleransi internal. Mekanisme toleransi eksternal merupakan sistem toleransi yang dibangun oleh tanaman dengan cara mencegah Al³⁺ masuk ke dalam sistem simpas di akar, bentuknya dapat berupa imobilisasi Al³⁺ di dinding sel, permeabilitas selektif dari membran plasma, barrier pH di daerah rhizosfer, eksudasi asam organik pengkelat Al³⁺, eksudasi P, dan effluks Al³⁺ (Taylor, 1991). Mekanisme toleransi internal

* Penulis untuk korespondensi. e-mail: pancadewi_fapetipb@yahoo.com

merupakan mekanisme untuk mencegah Al^{3+} yang sudah memasuki sistem simplas merusak sel, antara lain dengan cara kelatifikasi Al^{3+} di sitosol, kompartementasi Al^{3+} di vakuola, sintesis protein pengikat Al^{3+} , sintesis enzim yang tahan Al^{3+} , dan peningkatan aktivitas enzim (Taylor, 1991). Mekanisme lain yang juga terlibat dalam toleransi terhadap Al adalah metabolisme nitrogen. Salah satu mekanisme toleransi Al yang dimiliki oleh tanaman pakan *Calopogonium mucunoides* adalah melalui metabolisme nitrat (NO_3^-), amonium (NH_4^+), dan nitrit (NO_2^-) (Utama, 2008).

Eksudasi asam organik umumnya terjadi di akar untuk mengkelat Al^{3+} . Namun demikian, beberapa spesies yang toleran terhadap toksisitas Al teridentifikasi memiliki kandungan asam organik yang tinggi di bagian tajuk. Rumput *S. splendida* mengandung asam oksalat yang tinggi pada tajuk yaitu sebesar 10%, lebih tinggi dibandingkan dengan rumput *S. sphacelata* var. Nandi (4%) dan rumput *S. sphacelata* var. Kazangula (7%) (Karti *et al.*, 1995). Jenis rumput yang lain seperti *Brachiaria decumbens*, *Panicum maximum*, dan *Digitaria decumbens* mengandung asam oksalat yang lebih rendah yaitu kurang dari 2% (Middleton dan Barry, 1978). Atas dasar kadar asam oksalat yang tinggi pada rumput *S. splendida*, maka mekanisme toleransi terhadap toksisitas Al diarahkan pada uji sekresi asam organik, khususnya asam oksalat yang disekresikan oleh akar dan kadar asam organik lainnya di tajuk dan akar. Salah satu pendekatan untuk mempelajari mekanisme toleransi terhadap toksisitas Al adalah dengan membandingkan toleransi tanaman yang dekat kekerabatannya. *Chloris gayana* merupakan jenis rumput pakan yang sensitif terhadap toksisitas Al, sehingga membandingkan toleransi Al antara *S. splendida* dan *C. gayana* diharapkan dapat mengungkapkan mekanisme toleransi terhadap Al pada rumput pakan.

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan mekanisme toleransi terhadap toksisitas Al pada *S. splendida* dan *C. gayana* dengan mengukur kadar asam organik yang disekresikan oleh akar dan asam organik yang diakumulasi di akar dan tajuk.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan dari bulan Februari sampai dengan April 2006 di Laboratorium Agrostologi, Fakultas Peternakan, IPB. Percobaan pertama disusun menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan dua faktor dan dua ulangan untuk mempelajari akumulasi Al dan asam organik pada *S. splendida* dan *C. gayana*. Faktor pertama adalah kadar Al di media tanam (0 dan 2 mM Al). Faktor kedua adalah jenis rumput pakan yang berbeda toleransinya terhadap toksisitas Al, yaitu rumput toleran (*S. splendida*) dan rumput peka (*C. gayana*). Tanaman *S. splendida* dan *C. gayana* ditumbuhkan secara steril dengan teknik kultur jaringan. Komposisi larutan hara yang digunakan untuk menumbuhkan rumput adalah media MS (Murashige dan Skoog), yang kemudian dilanjutkan dengan percobaan kultur air. Percobaan ini menggunakan kultur air yang telah

disterilkan dengan cara diautoklaf. Setiap botol kapasitas 250 mL diisi larutan hara sebanyak 200 mL dan ditanami dengan rumput *S. splendida* dan *C. gayana*. Larutan hara yang digunakan adalah larutan hara dengan komposisi sebagai berikut: 1.5 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 1.00 mM KCl, 1.00 mM NH_4NO_3 , 0.40 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1.00 mM KH_2PO_4 , 0.50 ppm $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.02 ppm $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.05 ppm $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.50 ppm H_3BO_3 , 0.01 ppm $(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, dan 68 μM Fe-EDTA. Peubah yang diamati adalah sekresi asam organik dari akar ke larutan hara, analisa asam organik di jaringan akar dan tajuk yang diukur menggunakan *high performance light chromatography* (HPLC) dengan metode Pellet *et al.* (1995), dan analisa kadar Al pada akar dan tajuk yang diukur menggunakan *atomic absorbance spectrophotometer* (AAS) dengan metode Kinraide (1991).

Percobaan kedua disusun menggunakan RAL dengan dua faktor dan tiga ulangan untuk mempelajari pengaruh cekaman Al pada *S. splendida* dan *C. gayana*. Faktor pertama adalah jenis rumput pakan (*S. splendida* dan *C. gayana*), sedangkan faktor kedua adalah konsentrasi Al pada media tanam (28.19, 27.37, 13.74, and 0.13 me Al^{3+}). Konsentrasi Al^{3+} diperoleh dengan menggunakan tanah podsolik merah kekuningan (PMK) dari daerah Jasinga, Kabupaten Bogor, dengan kandungan Al 28.19 me Al^{3+} (100 g^{-1}). Kapur ditambahkan untuk mencapai konsentrasi Al yang dikehendaki sebagai berikut:

- L0 = tanah PMK tanpa pengapuran
- L1 = tanah PMK ditambah 0.5 ton $\text{CaCO}_3 \text{ ha}^{-1}$; setara dengan 27.37 me Al^{3+} (100 g^{-1})
- L2 = tanah PMK ditambah 1.0 ton $\text{CaCO}_3 \text{ ha}^{-1}$; setara dengan me Al^{3+} (100 g^{-1}); setara dengan 13.74 me Al^{3+} (100 g^{-1})
- L3 = tanah PMK ditambah 1.5 ton $\text{CaCO}_3 \text{ ha}^{-1}$; setara dengan 13.74 me Al^{3+} (100 g^{-1})

Tanaman ditanam dalam pot berisi 5 kg media tanam dan dipelihara selama 3 bulan. Pengamatan dilakukan terhadap penampilan tajuk dan akar pada kondisi cekaman Al yang berbeda.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada kondisi tanpa cekaman Al, tidak terdapat perbedaan akumulasi Al antara *S. splendida* dan *C. gayana*, baik pada bagian akar maupun tajuk (Tabel 1). Cekaman Al meningkatkan akumulasi Al pada jaringan akar, baik pada *S. splendida* dan *C. gayana*. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada kondisi cekaman Al, akar tanaman memerlukan mekanisme fisiologi khusus untuk mencegah Al memasuki jaringan akar atau mentoleransi Al yang masuk ke dalam jaringan akar. Aluminium terakumulasi dalam jumlah yang tidak berbeda di bagian akar *S. splendida* dan *C. gayana*, akan tetapi Al terakumulasi dalam jumlah yang lebih tinggi pada tajuk *S. splendida* dibandingkan dengan pada tajuk *C. gayana*. Hal tersebut menunjukkan bahwa jaringan tajuk *S. splendida* memiliki toleransi yang lebih tinggi terhadap Al

Tabel 1. Kadar aluminium pada akar dan tajuk *Setaria splendida* dan *Chloris gayana*

Tanaman	Al pada akar (ppm 100 mg ⁻¹)		Al pada tajuk (ppm 100 mg ⁻¹)	
	0 mM Al	2 mM Al	0 mM Al	2 mM Al
<i>Setaria splendida</i>	32.50b	40.00a	30.75b	37.05a
<i>Chloris gayana</i>	30.70b	37.20a	29.20b	31.70a

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda pada data setiap peubah menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf $\alpha = 1\%$

dibandingkan dengan *C. gayana*, karena dengan kandungan Al yang lebih tinggi *S. splendida* dapat tumbuh lebih baik dibandingkan *C. gayana*.

Sekresi asam organik merupakan salah satu mekanisme untuk mencegah Al³⁺ masuk ke dalam sistem simpas di akar (Ma *et al.*, 2001). Sekresi asam organik ke larutan hara dan kandungan asam organik di akar dan tajuk *S. splendida* dipengaruhi oleh cekaman Al (Tabel 2). Pada kondisi 2 mM Al, tanaman yang toleran (*S. splendida*) mensekresikan asam-asam organik (asam oksalat dan asam sitrat) dari akar ke larutan eksternal yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan yang disekresikan oleh tanaman peka (*C. gayana*) maupun rumput *S. splendida* yang ditumbuhkan pada kondisi tanpa Al, sedangkan asam malat tidak menunjukkan perbedaan. Berdasarkan hasil analisa asam organik tersebut dapat dijelaskan bahwa penambahan Al pada rumput *S. splendida* memicu sekresi eksudat akar yaitu asam oksalat dan asam sitrat ke larutan tanah untuk dapat mempertahankan pertumbuhannya. Pada akar tanaman bayam (*Spinacia oleracea* L. cv. Quanneng), Al menginduksi eksudasi asam oksalat (Yang *et al.*, 2005), sedangkan pada tanaman tembakau dan *Cassia tora* Al menginduksi eksudasi asam sitrat (Ryan *et al.*, 2001). Pada kondisi tanpa cekaman Al, tanaman kedelai tidak mengeksudasikan asam organik (Kasim *et al.*, 2001), sehingga sekresi asam organik diasosiasikan dengan respon tanaman terhadap cekaman Al. Asam organik (sitrat, malat, dan oksalat) yang dilepaskan

oleh akar diduga berperan dalam kelatisasi Al³⁺ yang merupakan kation beracun sehingga dapat mencegah Al³⁺ masuk ke dalam sistem simpas akar.

Akumulasi asam organik (asam oksalat dan asam malat) dalam jaringan akar rumput *S. splendida* pada kondisi cekaman 2 mM Al lebih tinggi bila dibandingkan dengan yang terakumulasi di dalam jaringan akar rumput *C. gayana* (Tabel 2). Akumulasi asam oksalat di dalam jaringan akar *S. splendida* pada kondisi cekaman Al lebih tinggi dibandingkan dengan pada kondisi tanpa cekaman Al. Kadar asam sitrat di dalam jaringan akar tidak dipengaruhi oleh cekaman Al dan tidak berbeda antara *S. splendida* dan *C. gayana*. Hasil analisa jaringan akar menunjukkan bahwa cekaman Al pada *S. splendida* memicu peningkatan akumulasi asam oksalat dan asam malat untuk mempertahankan kemampuan adaptasi dan pertumbuhannya. Sintesis asam malat dan asam oksalat dalam akar tanaman pada cekaman Al dilaporkan berperan dalam detoksifikasi kation Al³⁺ di apoplas (Ma *et al.*, 2001; Ryan *et al.*, 2001; Zhang *et al.*, 2001; Sasaki *et al.*, 2004; Kinraide *et al.*, 2005).

Pada kondisi dengan cekaman Al, baik *S. splendida* dan *C. gayana* mengalami peningkatan akumulasi asam-asam organik pada bagian tajuk. Akumulasi asam malat pada tajuk *S. splendida* secara nyata diinduksi oleh cekaman 2 mM Al (Tabel 2). Akumulasi asam malat di tajuk *S. splendida* (Tabel 2) dan kandungan Al pada tajuk *S. splendida* yang lebih tinggi dibandingkan *C. gayana*

Tabel 2. Kadar asam oksalat, asam malat, asam sitrat pada eksudat akar, tajuk dan akar tanaman *S. splendida* dan *C. gayana*

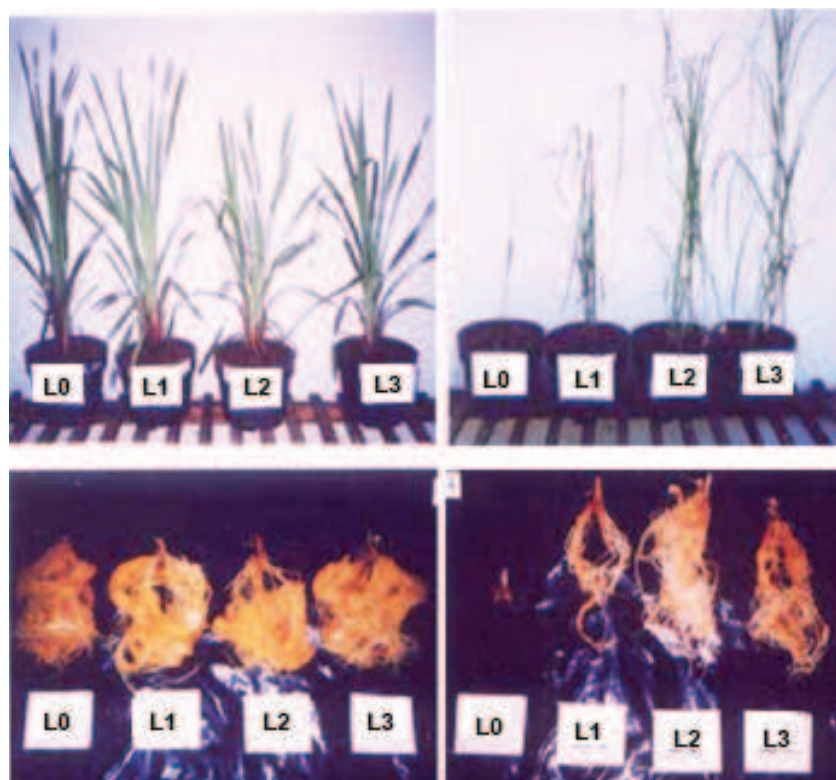
Bagian yang Diamati	yang	A. oksalat (ppm 100 μL^{-1})		A. malat (ppm 100 μL^{-1})		A. sitrat (ppm100 μL^{-1})	
		0 mM Al	2 mM Al	0 mM Al	2 mM Al	0 mM Al	2 mM Al
Eksudat akar							
	<i>S. splendida</i>	12.82b	43.26a	9.21a	35.78a	6.71b	23.28a
	<i>C. gayana</i>	10.78b	11.85b	5.46a	6.12a	3.67b	8.88b
Akar							
	<i>S. splendida</i>	13.46b	24.91a	5.05b	14.17a	6.54a	8.41a
	<i>C. gayana</i>	6.35c	11.13b	1.60b	3.43b	2.24a	5.71a
Tajuk							
	<i>S. splendida</i>	9.63ab	12.69a	0.00b	5.69a	4.26a	3.85ab
	<i>C. gayana</i>	1.18b	6.87ab	0.00b	2.59ab	0.86b	2.24b

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang berbeda pada data setiap peubah menunjukkan berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf $\alpha = 1\%$

pada kondisi cekaman Al (Tabel 1) mengindikasikan bahwa asam malat memiliki peran dalam detoksifikasi Al di tajuk *S. splendida*. Akumulasi asam oksalat dan asam malat pada jaringan tajuk terlihat lebih rendah akumulasinya bila dibandingkan dengan di akar. Pada kondisi tanpa cekaman Al, asam oksalat, asam malat, dan asam sitrat dapat terdeteksi pada jaringan tajuk dan akar *S. splendida* dan *C. gayana*, akan tetapi nilainya lebih rendah bila dibandingkan dengan pada kondisi cekaman Al. Hal tersebut menunjukkan bahwa penambahan Al dapat menginduksi peningkatan kadar asam-asam organik tersebut.

Respon *S. splendida* dan *C. gayana* pada cekaman Al tampak dari pertumbuhan tajuk dan akarnya (Gambar 1). Peningkatan konsentrasi Al pada media tanam tidak terlalu mempengaruhi pertumbuhan tajuk *S. splendida*. Sebaliknya,

pertumbuhan tajuk *C. gayana* sangat tertekan dengan semakin meningkatnya konsentrasi Al pada media tanam. Akumulasi asam sitrat pada jaringan tajuk *S. splendida* diduga berperan dalam toleransi *S. splendida* terhadap cekaman Al. Pertumbuhan akar *S. splendida* juga tidak dipengaruhi oleh peningkatan konsentrasi Al, sedangkan cekaman Al secara nyata menghambat pertumbuhan akar *C. gayana*. *S. splendida* mampu mendetoksifikasi Al yang terakumulasi pada jaringan akar dengan cara meningkatkan sintesis asam oksalat dan asam malat sehingga cekaman Al tidak menghambat pertumbuhan akar. Pada akar *C. gayana*, sintesis asam organik pada kondisi cekaman Al tidak cukup dapat mendetoksifikasi Al yang terakumulasi sehingga menghambat pertumbuhan akar dan pada akhirnya menghambat pertumbuhan tanaman secara keseluruhan.



Gambar 1. Pertumbuhan tajuk dan akar *S. splendida* (kiri) dan *C. gayana* (kanan) pada beberapa taraf cekaman Al. L0 = 28.19 me Al³⁺ (100 g)⁻¹; L1 = 27.37 me Al³⁺ (100 g)⁻¹; L2 = 13.74 me Al³⁺ (100 g)⁻¹; L3 = 0.13 me Al³⁺ (100 g)⁻¹

KESIMPULAN

Walaupun *S. splendida* mengakumulasi Al dalam jumlah yang lebih tinggi dibandingkan *C. gayana* di bagian tajuk dan akumulasi Al pada jaringan akar *S. splendida* tidak berbeda dengan yang terakumulasi pada jaringan akar *C. gayana*, *S. splendida* memiliki toleransi yang lebih baik terhadap cekaman Al dibandingkan *C. gayana*. Toleransi *S. splendida* terhadap toksisitas Al dicapai dengan cara mensekresikan asam oksalat dan asam sitrat dari akar ke larutan eksternal, dan dengan mengakumulasi asam oksalat dan asam malat pada akar dan tajuk.

DAFTAR PUSTAKA

- Karti, P.D.M.H., A. Makmur, Soedarmadi, D. Sastradipraja 1995. Studi keragaman sifat-sifat vegetatif dan nilai nutrisi rumput *Setaria sphacelata*. Media Peternakan 19:28-39.
- Kasim, N., D. Sopandie, S. Harran, M. Yusuf. 2001. Pola akumulasi dan sekresi asam sitrat dan asam malat pada beberapa genotipe kedelai toleran dan peka aluminium. Hayati 8:58-61.

- Kinraide T.B. 1991. Identity of the rhizotoxic aluminium species. *Plant Soil* 134:167-178.
- Kinraide, T.B., D.R. Parker, R.W. Zobel. 2005. Organic acid secretion as a mechanism of aluminium resistance: a model incorporating the root cortex, epidermis, and the external unstirred layer. *J. Exp. Bot.* 56:1853-1865.
- Middleton, C.H., G.A. Barry. 1978. A study of oxalate concentration in five grasses in the wet tropics of Queensland. *Tropical Grasslands* 12:28–35.
- Ma, J.F., P.R. Ryan, E. Delhaize. 2001. Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids. *Trends Plant Sci.* 6:273-278.
- Pellet, D.M., D.L. Grunes, L.V. Kochian. 1995. Organic acid exudation as an aluminum-tolerance mechanism in maize (*Zea mays* L.). *Planta* 196:788-795.
- Ryan, P.R., E. Delhaize, D.L. Jones. 2001. Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52: 527-560.
- Sasaki, T., Y. Yamamoto, B. Ezaki, M. Katsuhara, S.J. Ahn, P.R. Ryan, E. Delhaize, H. Matsumoto. 2004. A wheat gene encoding an aluminum-activated malate transporter. *Plant J.* 37:645-653.
- Taylor, G.J. 1991. Current views of the aluminium stress response: The physiological basis tolerance. p. 57-93. *In* J.D. Rendall (Ed.) *Current Views Topics in Plant Biochemistry and Physiology*. Univ. of Missouri Press, USA.
- Utama, M.Z.H. 2008. Mekanisme fisiologi toleransi cekaman aluminium spesies legum penutup tanah terhadap metabolisme Nitrat (NO_3^-), ammonium (NH_4^+) dan Nitrit (NO_2^-). *Bul. Agron.* 36:176-180.
- Yang, L.Y., S.J. Zheng, F.H. Yun, H. Matsumoto. 2005. Aluminium resistance requires resistance to acid stress: a case study with spinach that exudes oxalate rapidly when exposed to Al stress. *J. Exp. Bot.* 56:1197-1203.
- Zhang, W.H., P.R. Ryan, S.D. Tyerman. 2001. Malate-permeable channels and cation channels activated by aluminum in the apical cells of wheat roots. *Plant Physiol.* 125:1459-1472.